

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

**COPIE OFFICIELLE**

RECEIVED

82 SEP -7 AM 8:38

GROUP 180

LE DOCUMENT CI-ANNEXÉ EST LA COPIE CERTIFIÉE CONFORME,  
D'UNE DEMANDE DE TITRE DE PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
ENREGISTRÉE A L'INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE.

PUBLIÉ

LE TITRE A ÉTÉ ~~RELEVÉ~~ LE...

10 février 1984

ÉTABLIE A PARIS, LE... 23 MARS 1988...

Pour le Chef de Service  
Directeur de l'Institut national  
de la propriété industrielle

A handwritten signature in ink, appearing to read "Campenon".

M. CAMPENON

BA 854 / 060481

DEMANDE DE  
(voir case cochée)

- ☒ BREVET D'INVENTION ☐ CERTIFICAT D'ADDITION  
☒ CERTIFICAT D'UTILITÉ ☐ DEMANDE DIVISIONNAIRE  
☐ TRANSFORMATION D'UNE DEMANDE DE BREVET EUROPÉEN

DATE DE  
REMISE  
DES PIÈCES

6 AOU 1982

DATE DE  
DÉPÔT

06-08-82

N° D'ENREGISTREMENT  
NATIONAL

82 13804

CODE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

75  
DÉPÔT POSTAL 99

DUPLICATA DE LA REQUÊTE

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION  
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE.

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CABINET PLASSERAUD  
84, rue d'Amsterdam  
75009 PARISRÉFÉRENCE DU DEMANDEUR  
OU DU MANDATAIRE :

CHP/148 82 01

DATE DU POUVOIR GÉNÉRAL ET NUMÉRO  
DE TÉLÉPHONE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE :

280 67 77

1) TITRE DE L'INVENTION

Pentasaccharides substitués possédant des propriétés  
biologiques, leur préparation et leurs applications  
en tant que médicaments.NOMBRE DE  
REVENDEMENTS :

2) DEMANDEUR : NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE :

1

N° SIRENE, LE CAS ÉCHÉANT

CHOAY S.A.

3) NATIONALITÉ :

Française

4) ADRESSE COMPLÈTE :

48, avenue Théophile Gautier  
75782 PARIS CEDEX 16

PAYS

FRANCE

5) INVENTEUR

LE DEMANDEUR EST  
L'INVENTEUR

NON X

6) LE DEMANDEUR REQUIERT QUE  
L'ÉTABLISSEMENT DE L'AVIS  
DOCUMENTAIRE SOIT DIFFÉRÉ

X Oui

LE DEMANDEUR REQUIERT LE  
BÉNÉFICE DU PAIEMENT ÉCHELONNÉ  
DE LA TAXE D'AVIS DOCUMENTAIRELE DEMANDEUR BÉNÉFICIE  
POUR L'INVENTION CONCERNÉE, D'UNE DÉCISION  
DE RÉDUCTION DES TAUX DE TAXE7) DÉCLARATION DE PRIORITÉ  
PAYS D'ORIGINE

DATE DE DÉPÔT

NUMÉRO

Demande de  
(Article 20 deest l'objet d'une demande de la transformation  
de Brevet d'Invention  
n° 82 13804 du 10 Septembre 1982  
et articles 41 et 43

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION :

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE :

ADDITIONS ANTERIEURES : 1<sup>er</sup> N°2<sup>e</sup> N°

N°

3<sup>e</sup> N°

DATE DE DÉPÔT :

4<sup>e</sup> N°SIGNATURE  
DU DEMANDEUR  
OU  
DE SON  
MANDATAIRE

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT  
DE LA DEMANDE À L'INPI

C07H 5/06; A61K 31/70; G01N 33/60

(11) N° PUBLICATION

2 531 436

82 13804

(21) N° ENREGISTREMENT NATIONAL

NATURE DU DOCUMENT

A1 DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION

6 AOUT

1982

06 DU

10/02/84

(22) DATE DE DÉPÔT

(41) BOPI DEMANDE N°

DATE DE DÉLIVRANCE

(47) BOPI DÉLIVRANCE N°

(51) CLASSIFICATION INTERNATIONALE

C07H 5/06 ;

A61K 31/70 ;

G01N 33/60 ;

DU  
CLASST 3DATE DE  
REMISE  
DES PIÈCESN° D'ENREGISTREMENT  
NATIONAL

CERTIFICAT D'UTILITÉ

CODE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

75  
DÉPÔT POSTAL - 99RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION  
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE:

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CABINET PLASSERAUD

84, rue d'Amsterdam

75009 PARIS

1) TITRE DE L'INVENTION (54)

Pentasaccharides substitués possédant des propriétés  
biologiques, leur préparation et leurs applications  
en tant que médicaments.

2) DEMANDEUR: NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE: (71)

N° SIRENE, LE CAS ÉCHÉANT

CHOAY S.A.

4) ADRESSE COMPLÈTE:

48, avenue Théophile Gautier  
75782 PARIS CEDEX 16

PAYS

FRANCE

5) INVENTEUR (72)

LE DEMANDEUR EST  
L'INVENTEUR:

NON X

7) DÉCLARATION DE PRIORITÉ (30)

DATE DE DÉPÔT (32)

NUMÉRO (33)

Demande de Certificat d'Utilité résultant de la transformation  
de la demande de brevet déposée le 6-8-79  
(Article 20 de la Loi du 21 Janvier 1979 modifiée et articles 42 et 43  
du Décret du 19 Septembre 1979)

	Nbre
P. de G. (Req)	1
P. de G. (Pub)	26
Des et Rev	
Avis Doc	
Pl. de Dessin	1
D. Inventeurs	1
Abrégé	
TOTAL	32

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

N°

DATE DE DÉPÔT:

ADDITIONS ANTERIEURES: 1° N°

2° N°

3° N°

4° N°

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)  
ChP.MTB - 44-83-22

N° d'enregistrement national

Titre de l'invention :

"Pentasaccharides substitués possédant des propriétés biologiques, leur préparation et leurs applications en tant que médicaments"

La Demanderesse CHOAY s.a.  
représentée par son mandataire le  
~~XXXXXXXXXXXX~~

CABINET PLASSERAUD  
84, rue d'Amsterdam,  
75009 - PARIS -

désigne (nt) en tant qu'inventeur (s) (nom, prénoms, adresse)

CHOAY Jean

21, rue Saint-Guillaume  
75007 - PARIS - FRANCE

Jacquinet Jean-Claude

1, Allée André Gide  
45100 -ORLEANS-la-SOURCE -FRANCE

PETITOU Maurice

27, rue du Javelot,  
75645 PARIS CEDEX 13 -FRANCE-

SINAY Pierre

5, rue Jacques Monod  
45100 - ORLEANS - FRANCE

LORMEAU Jean-Claude

1, rue Joseph Delattre  
76150 - MAROMME - FRANCE -



Date et

signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

15 février 1983

*[Signature]*

"Pentasaccharides substitués possédant des propriétés biologiques, leur préparation et leurs applications en tant que médicaments"

5 L'invention est relative à de nouveaux pentasaccharides possédant des propriétés biologiques leur permettant, notamment de ne contrôler que certaines étapes de la coagulation sanguine.

Elle a également pour objet un procédé de synthèse de dérivés à structure pentasaccharidique.

10 L'invention concerne, en outre, l'application des pentasaccharides biologiquement actifs en question en tant que principes actifs de médicaments.

Les recherches des inventeurs, qui ont amené à la mise au point de l'invention, portent sur l'obtention, par  
15 voie de synthèse, d'oligosaccharides comportant des motifs constitutifs de chaînes hépariniques et présentant une activité anti-Xa (Yin-Wessler) plus élevée que celle de l'héparine avec une activité anticoagulante globale (mesurée selon le test USP ou APTT) plus faible que celle  
20 de l'héparine.

On rappelle que la détermination de l'activité anti-Xa selon le test de Yin-Wessler est rapportée par ces auteurs dans J. Lab. Chim. Med. 1976, 81, 298-300.

25 Le test USP est décrit dans "Pharmacopea of the United States of America", pages 229-230 (voir également le deuxième supplément USP-NF, p. 62 et le quatrième supplément USP-NF, p. 90, respectivement intitulés "Drug substances" et "Dosage forms").

30 Le titre APTT est mesuré selon la méthode de J. Caen et al., dans l'hémostase, Expansion scientifique française, Paris, 1968, pages 133-135.

Les travaux effectués par les inventeurs ont montré qu'en réalisant la condensation de motifs saccharidiques substitués selon une stratégie donnée, il était possible d'obtenir des pentasaccharides d'un intérêt tout particulier au  
35 regard de leurs propriétés anticoagulantes spécifiques.



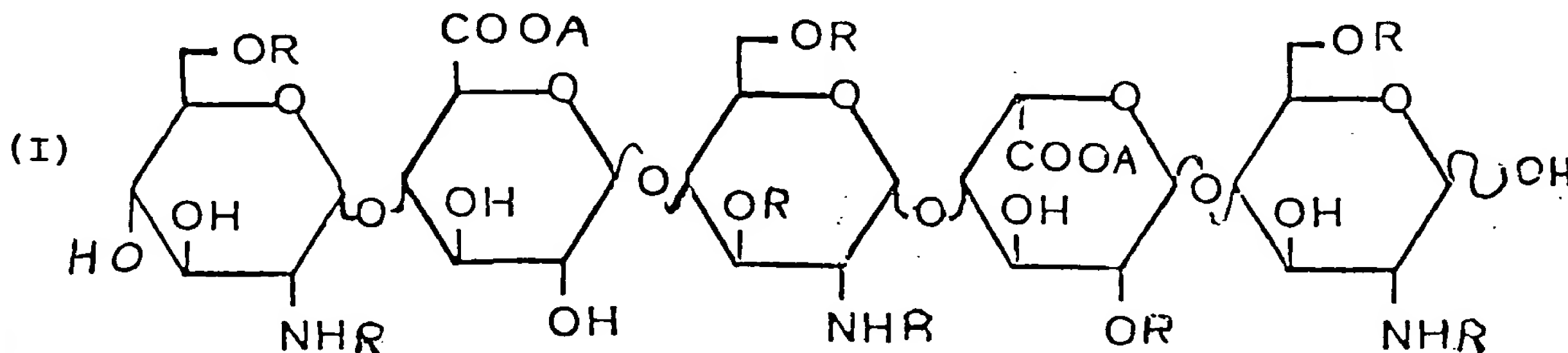


L'invention a donc pour but de fournir de nouveaux pentasaccharides dont la structure de base comporte des motifs constitutifs des chaînes d'héparine.

Elle vise également un procédé d'obtention de composés à structure pentasaccharidique substituée par voie de synthèse, ce qui permet donc, selon un avantage essentiel de l'invention, d'élaborer de tels composés à l'échelle industrielle et avec un degré de pureté très élevé.

L'invention vise, en outre, à fournir des principes actifs et les médicaments eux-mêmes, capables d'inhiber certains facteurs de la coagulation et tout particulièrement le facteur Xa, quand ils sont présents dans le sang, avec un degré de sélectivité élevé vis-à-vis d'autres facteurs dont le facteur II ce qui est lié à une très faible activité sur la coagulation globale.

Les pentasaccharides de l'invention répondent à la formule (I)



dans laquelle

- les groupes  $\underline{R}$ , identiques ou différents les uns des autres, représentent un atome d'hydrogène ou un radical, physiologiquement acceptable, de type  $-R_1R_2$ , dans lequel  $\underline{R}_1$  représente avantageusement un anion minéral, en particulier un groupe  $SO_3^-$  et  $R_2$  représente un cation métallique, notamment un métal alcalin tel que le sodium ou alcalino-terreux, tel que le calcium ou le magnésium, ou un cation organique tel qu'un dérivé de base organique azotée, et

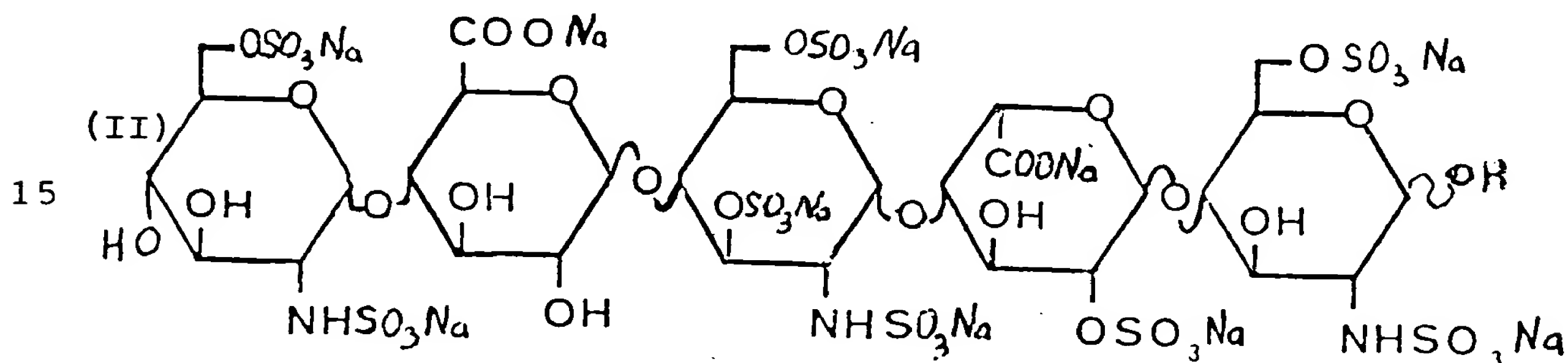


- les substituants A, identiques ou différents les uns des autres, représentent un atome d'hydrogène, ou encore un cation métallique ou un cation organique tels que définis ci-dessus.

5 Dans des pentasaccharides préférés tous les groupes R sont identiques entre eux. Dans d'autres pentasaccharides, tous les groupes A sont, en outre, identiques entre eux.

10 Un pentasaccharide de ce type, particulièrement préféré comporte comme substituants de type R, un groupe  $-SO_3Na$  et comme substituants A un groupe Na.

Ce pentasaccharide répond ainsi à la formule (II) suivante



Les pentasaccharides de l'invention sont, en outre, caractérisés par des titres Yin-Wessler largement supérieurs à ceux de l'héparine. Plus spécialement, le pentasaccharide de formule II est doté d'une activité anti-Xa (Yin-Wessler) égale ou supérieure à 2000 u/mg, atteignant 2500 u/mg.

Dans un test utilisant un substrat chromogène, cette activité a même été de 4000 unités anti Xa/mg (méthode de TEIEN A.M. et LIE modifiée ; Thrombosis Research No 10, 1977, 388-410.)

25 Ce test consiste à utiliser le facteur Xa commercialisé par la Société SIGMA en solution à 8 u/ml dans du sérum physiologique, la concentration du substrat étant de 1,33 mM.



Pour effectuer ce test, on peut procéder de la façon suivante.

On mélange 10 µl de solution à doser et 300 µl de plasma humain dilué avec du tampon Tris maléate  
5 0,02 M, pH 5.

On laisse incuber une minute à 37°C.

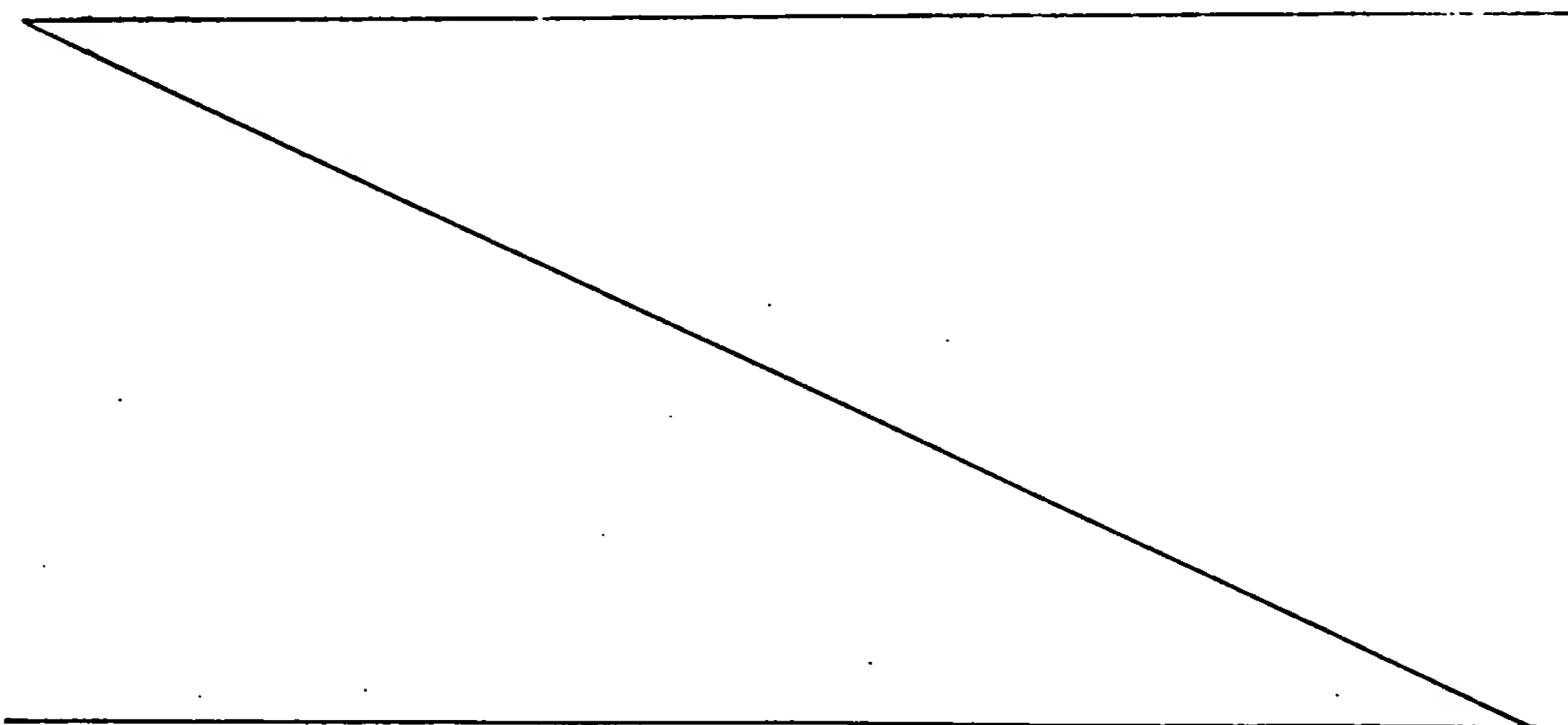
On ajoute 100 µl du susdit facteur Xa (8 u/ml) et une minute après on injecte la solution obtenue dans le substrat.

10 L'activité anticoagulante globale de ces produits est très faible, 4 u/mg dans le test APTT.

Ces propriétés leur permettent de contrôler, de manière spécifique, certaines étapes de la coagulation sanguine.

15 L'étude de ces produits montre qu'ils sont capables d'exercer une activité antithrombotique puissante et que les risques d'hémorragie sont avantageusement pratiquement éliminés en raison de leur faible activité anticoagulante globale.

20 Les pentasaccharides de l'invention sont, en outre avantageusement dépourvus de toxicité.





Ces produits sont donc particulièrement précieux pour l'élaboration de médicaments utilisables, notamment, pour le traitement des thromboses.

5 L'invention est donc relative à des préparations pharmaceutiques qui renferment lesdits pentasaccharides à activité anti-Xa élevée.

Elle est plus particulièrement relative à des préparations pharmaceutiques dépourvues des substances pyrogènes, contenant une quantité efficace de principes actifs en association avec des excipients pharmaceutiques.

10 Elle concerne également les compositions dans lesquelles le véhicule pharmaceutique est approprié pour l'administration par voie orale. Des formes d'administration de l'invention appropriées pour l'administration par voie orale peuvent être avantageusement des gélules

15 gastrorésistantes, des comprimés ou tablettes, des pilules, ou encore présentées sous forme de liposomes.

D'autres compositions pharmaceutiques comprennent ces pentasaccharides en association avec les excipients appropriés pour l'administration par voie rectale. Des formes

20 d'administration correspondantes sont constituées par des suppositoires.

D'autres formes d'administration de l'invention sont constituées par des aérosols ou des pommades.

L'invention concerne également des compositions pharmaceutiques injectables, stériles ou stérilisables.

pour administration tant par voie intraveineuse, qu'intra-

musculaire ou sous cutanée.

30 Ces solutions renferment avantageusement 1000 à 100 000 u (Vin-Wessler)/ml de pentasaccharides, de préférence de 5000 à 50 000, par exemple de 25 000 u/ml, lorsque ces solutions sont destinées à l'injection par voie sous-cutanée. Elles peuvent contenir, par exemple,

35 de 500 à 10 000, notamment 5000 u/ml de pentasaccharides lorsqu'elles sont destinées à l'injection par voie intraveineuse ou par perfusion.



Avantageusement, de telles préparations pharmaceutiques sont présentées sous la forme de seringues non récupérables, prêtes à l'emploi.

5 L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques contenant lesdits pentasaccharides en association avec un autre principe actif, utilisable en particulier pour la prophylaxie et le traitement de thrombose, tel qu'un agent veinotonique comme la dihydroergotamine, un sel d'acide nicotinique ou un  
10 agent thrombolytique comme l'urokinase.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention sont particulièrement adaptées pour le contrôle (préventif ou curatif) de certaines étapes de la coagulation du sang chez l'homme ou l'animal), notamment dans le cas  
15 où le patient est soumis à des risques d'hypercoagulabilité résultant notamment d'opérations chirurgicales, de processus atheromateux, de développement de tumeurs et de troubles de la coagulation par des activateurs bactériens ou enzymatiques etc....

20 Afin d'illustrer l'invention. on indique, ci-après, un exemple de posologie utilisable chez l'homme : cette posologie comprend, par exemple, l'administration au patient de 1000 à 25 000 u (Yin et Wessler) par voie sous-cutanée, une à trois fois par jour, selon le niveau des risques d'hypercoagulabilité ou la condition thrombotique du patient, ou de 1000 à 25000 u/24 heures, par voie intraveineuse, en administrations discontinues à intervalles réguliers, ou continues par perfusion, ou encore de 1000 à 25 000 u (trois fois par semaine) par  
30 voie intramusculaire ou sous-cutanée (ces titres sont exprimés en unités Yin-Wessler). Ces doses peuvent être naturellement ajustées pour chaque patient



en fonction des résultats et des analyses de sang effectuées auparavant, la nature des affections dont il souffre et, d'une manière générale, son état de santé.

L'invention se rapporte également à l'application  
5 des pentasaccharides de l'invention, à la constitution de réactifs biologiques, utilisables en laboratoires, notamment comme éléments de comparaison pour l'étude d'autres substances dont on souhaite tester l'activité anticoagulante, notamment au niveau de l'inhibition du  
10 facteur Xa et du dosage de l'antithrombine III.

Elle vise également l'application de ces pentasaccharides en médecine nucléaire, en tant que produits radiopharmaceutiques. Ces produits sont alors marqués par des traceurs choisis parmi ceux couramment utilisés dans  
15 ce domaine, et notamment à l'aide de technétium 99 m.

A cet effet, on transforme le technétium 99 m obtenu à partir de générateurs du commerce, sous forme de pertechnétate desodium de valence 7 non réactif, en technétium réduit de valence 4 qui serait la forme la  
20 plus réactive du technétium. Cette transformation est effectuée grâce à un système réducteur réalisé à partir de sels d'étain (chlorure stanneux), de sels de fer (sulfate ferreux), de sels de titane (trichlorure de titane) ou autres sels.



5 La plupart du temps, cette simple réduction du technétium suffit, dans des conditions de pH données, à réaliser la fixation du technétium sur la molécule considérée.

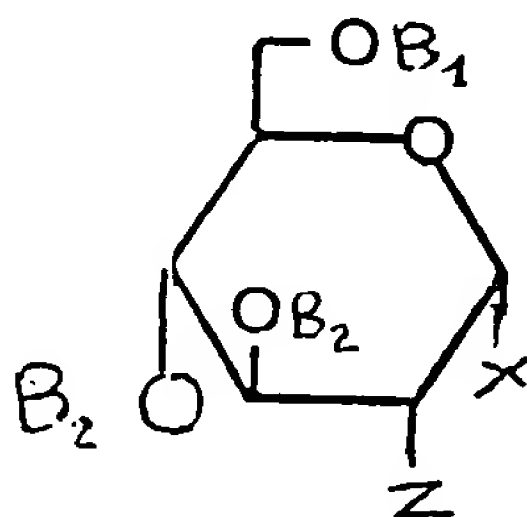
On peut utiliser les produits de l'invention, qui  
30 constituent en quelque sorte un support, à des doses de l'ordre de 100 à 200 u Yin-Wessler.

Pour l'élaboration de ces réactifs radiopharmaceutiques, on peut opérer conformément à la méthode de P.V. KULKARNI et al. dans The Journal of Nuclear Medicine  
35 21, No 2, p. 117-121.

Les produits ainsi marqués sont avantageusement utilisés dans des tests in vivo pour la détection et le diagnostic d'extension des thromboses et des états thrombotiques.

- 5 Les nouveaux pentasaccharides biologiquement actifs de l'invention sont avantageusement obtenus par réaction d'un monosaccharide à structure D-glucosamine de formule (III)

10

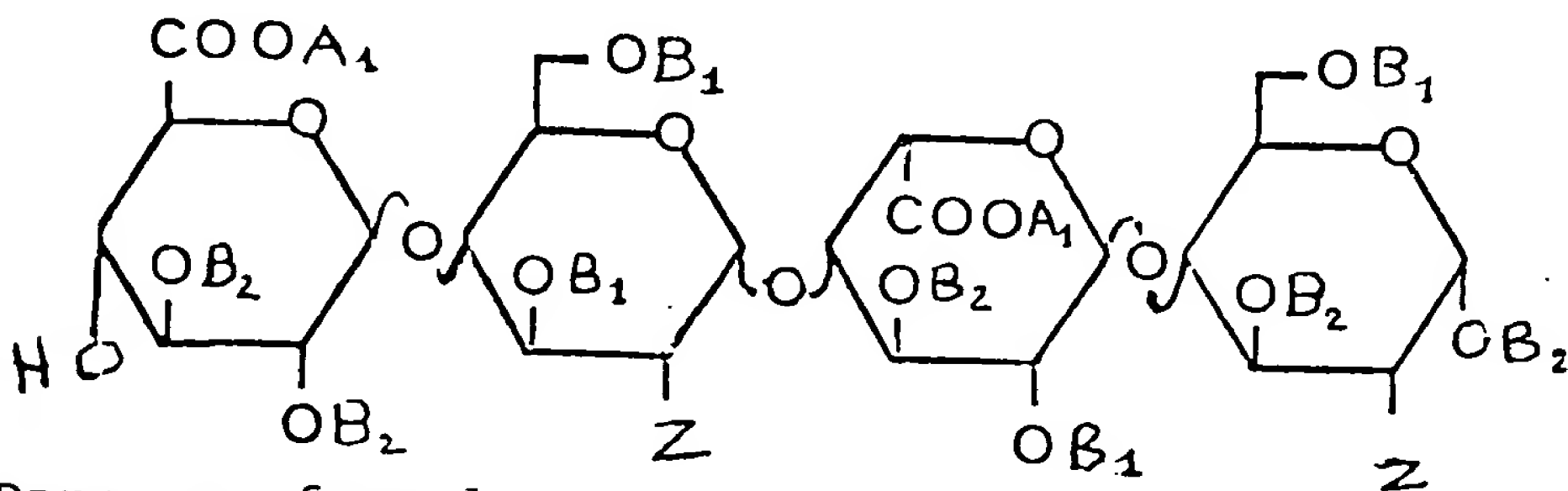


(III)

avec :

un tétrasaccharide formé d'un enchaînement de motifs respectivement de structure (acide glucuronique) - (D-glucosamine) - (acide-L-iduronique) - (D-glucosamine) répondant à la formule

15 (IV)



(IV)



Dans ces formules :

- $\underline{B}_1$ ,  $\underline{B}_2$  et  $\underline{A}_1$  représentent des groupements de blocage des groupes -OH éliminables de manière à permettre d'introduire successivement les substituants désirés sur les motifs saccharidiques sans que les groupements de blocage restant ne soient affectés, ou de libérer des groupes -OH donnés,
- 20 -  $\underline{Z}$  représente un groupement

fonctionnel azoté, précurseur d'un groupement aminé, en particulier un groupe azido  $N_3$  ou un groupe benzyloxy-carbonyl amino,

-  $X$  représente un atome d'halogène, notamment, du brome ou du chlore.

5 On remarquera que dans les produits de départ (III) et (IV) toutes les positions sont bloquées, excepté "les positions réactives" c'est-à-dire celles qui doivent être impliquées dans la réaction de glycosylation.

10 Ces positions réactives, sur chacun des produits de départ, sont alors substituées par des radicaux capables de réagir en permettant l'établissement d'une liaison glycosidique, et qui sont compatibles avec les groupements de blocage. Dans les produits choisis, ces radicaux sont  
15 respectivement constitués par un halogène et un alcool.

Les groupements de blocage sont choisis parmi les groupements inertes vis-à-vis de la réaction de glycosylation.

Il s'agit des groupements  $Z$  qui permettent le  
20 maintien durant tout le processus de synthèse d'un groupement azoté qui pourra ensuite être transformé en un dérivé fonctionnel aminé et avantageusement en un sel d'amine.

Les autres groupements de blocage assurent la protection des groupes  $-OH$  des différents motifs saccharidiques des produits de départ.

Ces groupements sont choisis de manière à permettre d'introduire, de manière spécifique, des substituants donnés sur les motifs saccharidiques.

On a alors avantageusement recours à des  
30 groupes de blocage différents, à savoir,  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $A_1$ , selon le substituant à introduire.

Les groupes  $B_1$ , qui protègent des groupes  $-OH$  destinés à être salifiés, en particulier sulfatés, sont avantageusement constitués par des groupes acyle, en



particulier acétyle. Les groupes de blocage  $B_2$  qui doivent être éliminés pour libérer les groupes -OH en fin de processus, sont choisis parmi des groupes inertes durant la réaction de sulfatation, et sont avantageusement constitués par des groupes benzyle.

Les groupes  $A_1$  permettent le blocage des groupes carboxyle en position 6 tout au long des étapes mises en oeuvre pour l'introduction des divers substituants et sont éliminables pour permettre, en particulier, d'effectuer une réaction de salification des groupes carboxyle. L'utilisation de radicaux alcoyle, en particulier, méthyle, s'avère à cet égard satisfaisante.

La réaction de condensation mise en oeuvre dans l'invention est basée, comme indiqué ci-dessus, sur la réaction d'un halogénure et d'un alcool.

Cette réaction est avantageusement réalisée en milieu solvant, en particulier dans un solvant organique du type du dichlorométhane, et en présence de catalyseur, tel que du triflate d'argent et également d'un accepteur de protons, tel que la sym-collidine.

Les conditions réactionnelles, en particulier concernant la température, la durée, la concentration en réactifs, sont choisies de manière à réaliser la liaison de glycosylation sans altérer la structure et les substituants des différents motifs et seront aisément établies par l'homme de l'art pour l'obtention d'un type donné de produits.

Le pentasaccharide formé à l'issue de cette condensation est ensuite traité de manière à éliminer par





séquence les groupements de blocage présents et pour introduire successivement les groupements fonctionnels désirés et libérer les fonctions -OH dans des positions données.

- 5            On procède avantageusement dans une première étape à l'élimination des groupes  $B_1$ , à l'aide, par exemple, de soude dans le cas de groupes acétyle, ce qui libère les positions -OH correspondantes qui seront ensuite, au cours d'une deuxième étape, soumises à un
- 10 traitement aux fins de sulfatation de ces seules positions. Pour introduire un groupe sulfate, on utilise avantageusement un agent de sulfatation tel qu'un complexe de triméthylamine/ $SO_3$ .

- 15            L'introduction du cation  $R_2$  désiré peut être notamment réalisée à l'aide d'une résine échangeuse d'ions comprenant ce cation, ou encore, après passage sous forme acide, par neutralisation avec la base du cation.

- Après l'étape de sulfatation, on libère les groupes -OH de leurs substituants benzyliques et, en même temps, on transforme
- 20 le groupe  $Z$  en groupe amine par hydrogénation, par exemple, sous courant d'hydrogène, en présence de catalyseur d'hydrogénation, en opérant dans des conditions compatibles avec le maintien du groupe sulfate en position  $\underline{6}$  des motifs D-glucosamine.

- Pour disposer de motifs glucosamine comportant en position  $\underline{2}$  des groupes azotés fonctionnels, on soumet le pentasaccharide obtenu à l'issue de l'étape précédente à l'action d'un agent approprié. L'introduction de groupes sulfate est ainsi avantageusement réalisée avec
- 30 l'agent de sulfatation triméthylamine/ $SO_3^-$  indiqué ci-dessus.

- Il apparaît approprié d'effectuer cette réaction à pH basique, d'environ 9 à 10. Pour obtenir le sel recherché, on utilise avantageusement une
- 35 résine échangeuse d'ions contenant le cation que l'on



souhaite introduire, ou encore, après passage sous forme acide, on neutralise avec la base du cation.

Au cours d'une étape supplémentaire, les groupements protecteurs des groupes carboxyliques sont éliminés en vue de la salification des fonctions acide, par exemple, à l'aide d'un hydroxyde métallique.

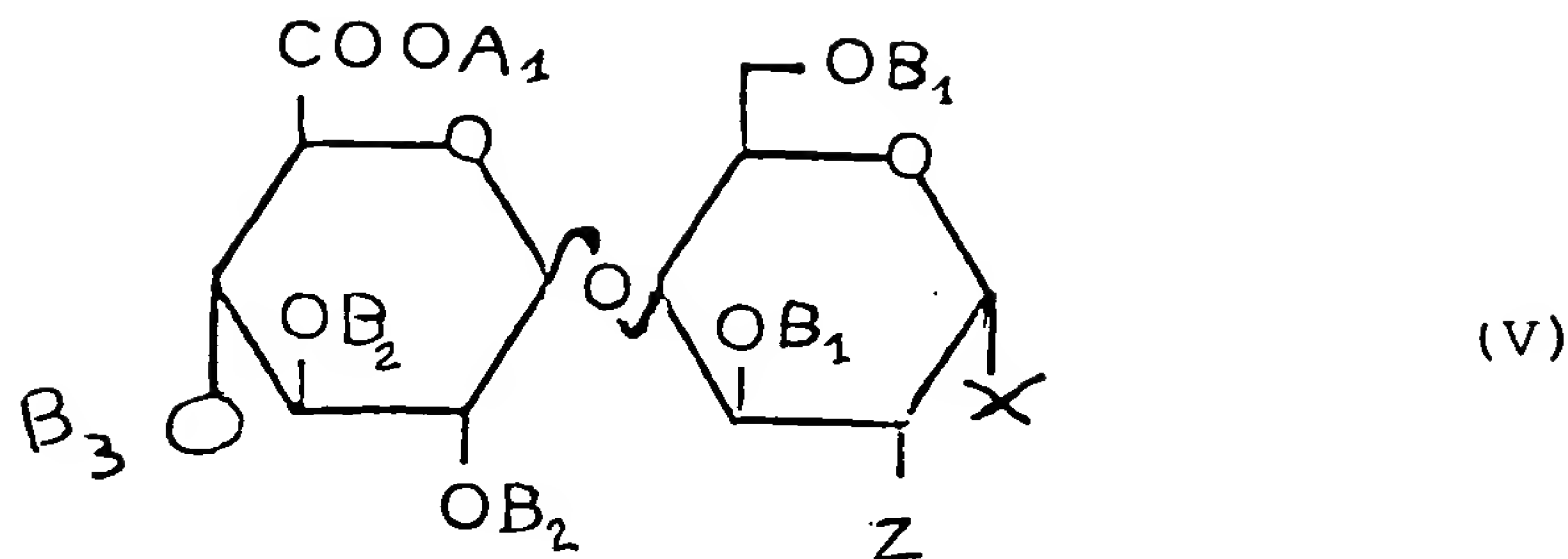
Les pentasaccharides intermédiaires sont des produits nouveaux et en tant que tels entrent également dans le cadre de l'invention.

10 Le tétrasaccharide de formule IV mis en oeuvre dans la réaction de condensation évoquée ci-dessus est avantageusement obtenu à partir du produit correspondant, mais comportant en position réactive (à savoir sur le carbone en position 4 du motif à structure acide uronique) un  
15 groupe de blocage temporaire. On désigne par ce terme un groupe qui permet de protéger provisoirement un groupe - OH destiné à être engagé durant le processus de synthèse dans une réaction de glycosylation et non un groupe -OH destiné à être libéré ou fonctionnalisé.  
20 Ce groupe doit être choisi parmi ceux compatibles avec les autres groupements présents ainsi qu'avec les conditions mises en oeuvre dans le processus de synthèse.

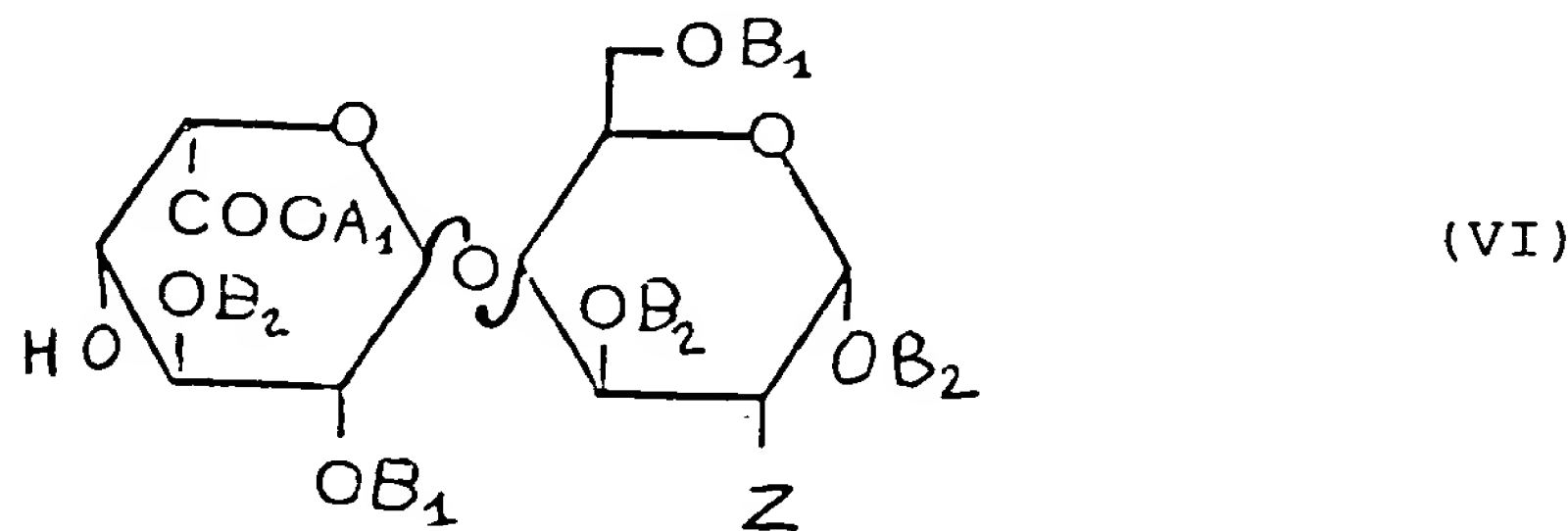
Un groupe approprié est, par exemple, du type monochloracétyle. Mais il est clair que d'autres groupements répondant aux exigences ci-dessus peuvent être utilisés.

Selon un mode préféré de réalisation du procédé de l'invention, le tétrasaccharide comportant le groupement de blocage temporaire ci-dessus est avantageusement obtenu par réaction d'une part d'un disaccharide de structure (acide glucuronique)-(D-glucosamine) répondant à la formule (V)





avec un disaccharide de structure (D-glucosamine)-(acide L-iduronique) répondant à la formule (VI)

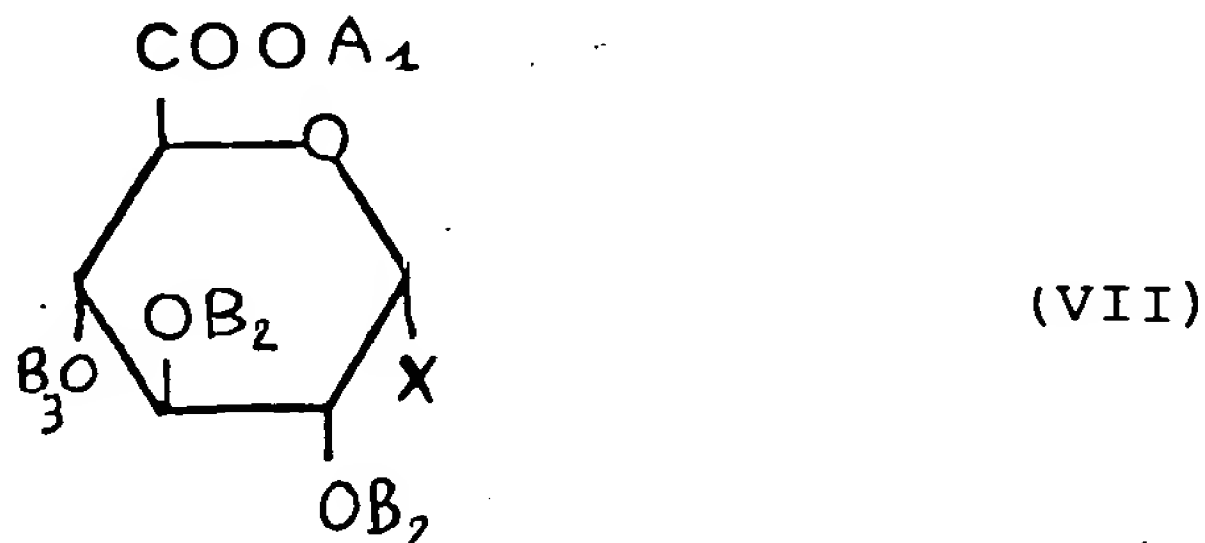


5 Dans ces formules, les substituants  $A_1$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $Z$  et  $X$  présentent les significations données ci-dessus et  $B_3$  un groupement de blocage temporaire tel que défini plus haut.

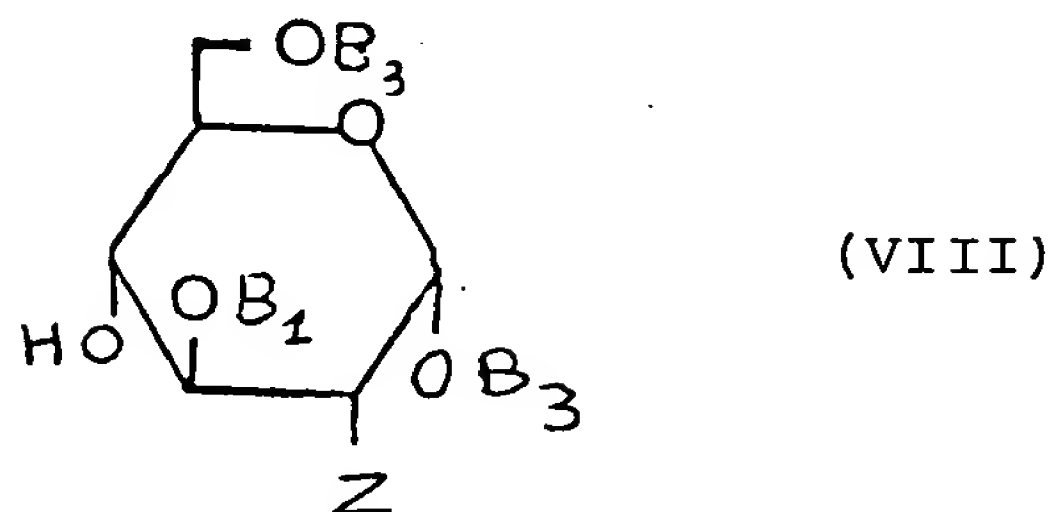
10 La réaction de condensation entre ces deux disaccharides est avantageusement réalisée dans des conditions du type de celles utilisées pour la réaction du tétrasaccharide de formule (IV) avec le monosaccharide de formule (III).



15 Le disaccharide de formule (V) est à son tour avantageusement obtenu à partir d'un monosaccharide à structure acide uronique de formule (VII).



et d'un monosaccharide à structure D-glucosamine de formule (VIII)



dans lesquelles  $A_1$ ,  $B_1$ ,  $B_3$ ,  $X$  et  $Z$  présentent les significations données ci-dessus. De manière préférée, les deux substituants  $-O-B_3$  dans le dérivé de formule (VIII) forment un pont 1,6-anhydro.

Le disaccharide résultant de la condensation des monosaccharides VII et VIII est traité, selon les techniques habituelles, pour disposer d'une seule position réactive, à savoir sur le carbone anomère, et introduire donc un groupe  $X$  sur ce carbone.

Le dérivé de formule (VIII) est avantageusement obtenu à partir du dérivé 11, décrit dans la demande de brevet FR No 82 09392 du 28 mai 1982 au nom de la Demanderesse, qui est alors traité selon les techniques classiques de manière à introduire le groupe de blocage  $B_3$  et le groupe réactif  $X$ .

Comme disaccharide de formule V, on utilise avantageusement un produit tel qu'obtenu selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR No 82 01575 du 1.02.1982, au nom de la Demanderesse.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront dans la description des exemples



qui suivent et en se reportant aux figures 1 à 4 qui représentent l'exemple du schéma réactionnel correspondant aux synthèses décrites dans les exemples.

Les références numériques utilisées dans ces figures pour les composés sont reprises dans les exemples pour désigner les mêmes composés.

Les abréviations utilisées ont les significations suivantes :

- Ac représente un groupe acétyle,
- B un groupe benzyle
- Me un groupe méthyle
- MCAO un groupe monochloroacétyle, et
- Y un groupe -COOB.

10



EXEMPLE 1 :

Synthèse du disaccharide 3 ou (1-bromo-3,6-di-O-acétyl-2-azido-4-O/2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacétyl-β-D-glucopyranosyl)uronate de méthyle-7-D-glucopyranose.

5 Cette synthèse comporte :

A) la préparation du monosaccharide 14 ou (1-bromo-2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacétyl-α-D-glucopyranosyl)uronate de méthyle;

B) la condensation du composé 14 avec le monosaccharide 15 conduisant au disaccharide 1;

C) l'acétolyse du composé 1 conduisant au disaccharide 2; et

D) la bromuration du disaccharide 2 pour donner le dérivé 3  
A) Préparation du monosaccharide 14

15 Cette synthèse est effectuée à partir du monosaccharide 16 ou (prop-1'-ényl 2,3-di-O-benzyl-α-D-glucopyranoside) uronate de méthyle, (dont la synthèse est rapportée dans la demande de brevet FR 8209392) par  
1 : chloroacétylation du composé 16 en position 4 ;  
20 2 : déblocage du carbone anomère;  
3 : bromuration du carbone anomère

1 chloroacétylation du composé 16 conduisant au composé 17, à savoir le (prop-1'-ényl 2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacétyl-α-D-glucopyranoside)uronate de méthyle  
25 thyle

On dissout 2,8 g du composé 16 dans 30 ml de pyridine (6,56 mmoles) . Après refroidissement à 0°C, on ajoute goutte à goutte 10 ml d'une solution de 2 ml de chlorure de chloroacétyle dans 20 ml de dichlorométhane.

30 Après 30 minutes, on évapore à sec, on reprend le résidu par 200 ml de chloroforme, on lave avec une solution à 10 % de KH SO<sub>4</sub>, puis avec de l'eau, on sèche et on concentre. Le sirop obtenu est chromatographié sur gel de silice (200 g; éluant AcOEt /hexane; 1/3; v/v). On obtient ainsi 2,7 g de composé 17 pur sous forme de sirop (rendement 80 %);  $[\alpha]_D^{20} = + 2^\circ$  (c = 1,5; chloroforme). L'analyse élémentaire et le spectre de RMN confirment la structure attendue.





2) Déblocage du carbone anomère conduisant au composé  
18 ou (2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacétyl-D-glucopyra-  
nose)uronate de méthyle

On dissout 2,7 g (5,3 mmoles) du dérivé 17  
dans 80 ml d'un mélange acétone/eau (5/1; v/v). De  
l'oxyde mercurique (3,1 g) est ajouté suivi d'une solu-  
tion de chlorure mercurique (3,9 g) dans l'acétone (27  
ml). Après 5 minutes, les sels sont éliminés par filtra-  
tion. Après concentration à sec, le résidu est repris par  
du chloroforme. La phase chloroformique est lavée avec  
une solution de KI à 10 % puis avec de l'eau. Après éva-  
poration, le produit est cristallisé dans un mélange  
acétate d'éthyle/hexane. On obtient 2 g d'un solide de  
pf 105-107°C;  $[\alpha]_D^{20} = -4,7^\circ$  (eq, 1; chloroforme). L'a-  
nalyse élémentaire et l'étude en RMN confirment la struc-  
ture (rendement 80 %).

3) Bromuration du carbone anomère conduisant au composé  
14 ou (1-bromo-2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacétyl- $\alpha$ -D-  
glucopyranosyl)uronate de méthyle

On dissout 2 g (4,30 mmoles) du composé 18  
dans 50 ml de dichlorométhane. On ajoute 4,8 ml (34,4  
mmoles) de sym-collidine à 0°C suivie de bromure de bro-  
mométhylène diméthyl ammonium (17 mmoles) préparé selon  
HEPBURN D.R. et HUDSON H.R.J. Chem. Soc. Perkin I (1976)  
754-757. Après 4 heures de réaction, le mélange est dilué  
par 100 ml de dichlorométhane, puis versé dans de l'eau  
glacée. Après lavage avec de l'eau glacée, le solvant est  
éaporé. Après chromatographie sur gel de silice (20 g;  
éluant hexane/acétate d'éthyle, 2/1; v/v), on obtient  
2,06 g de composé 14 sous forme d'un sirop (rendement  
90 %).  $[\alpha]_D^{20} = +82,5^\circ$  (c = 1,5; chloroforme). L'analyse  
élémentaire et l'étude en RMN confirment la structure.



B) Préparation du disaccharide 1 ou (3,0-acétyl-1,6-  
anhydro-2-azido-4-O-/(2,3-di-O-benzyl-4-O-chloroacé-  
tyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)uronate de méthyle/ $\beta$ -D-gluco-  
pyranose.

Cette synthèse est basée sur la condensation des  
monosaccharides 14 et 15.

A une solution de 870 mg (3,8 mmoles) de composé 15 dans le dichlorométhane, on ajoute 1 g de drierite (0,5 g de tamis moléculaires 4 Å, en poudre et 0,525 g de carbonate d'argent fraîchement préparé. Après 2 heures d'agitation, on ajoute goutte à goutte, à 0°C, 670 mg (1,3 mmoles) du composé 14. Après 6 jours, les solides sont éliminés par filtration. Le sirop obtenu après concentration est chromatographié sur gel de silice (50 g; éluant : chloroforme/acétate d'éthyle; 4/1, v/v). On obtient le disaccharide 1 sous forme de mousse (421 mg; 50 %).  $[\alpha]_D^{20} = -17^\circ$  ( $c = 1$ ; chloroforme). L'analyse élémentaire confirme la structure. L'étude en RMN confirme la configuration  $\beta$  de la liaison interglycosidique.

C) Préparation des disaccharides de structure 2 par acétolyse du disaccharide 1

On prépare le disaccharide 2 en soumettant le disaccharide 1 à une réaction d'acétolyse comme suit.

300 mg du composé 1 sont dissous dans un mélange de 4 ml d'anhydride acétique et de 0,5 ml d'acide trifluoroacétique fraîchement distillé. Le mélange réactionnel est soumis à agitation durant 18 h à 18°C, puis évaporé à sec et co-évaporé avec du toluène. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (15 g). Par élution avec un mélange dichlorométhane, acétate d'éthyle (19/1, v/v). On récupère 282 mg d'un mélange d'acétates anomères de structure 2 sous forme d'un sirop incolore (rendement 86 %). Le rapport des formes  $\alpha$  aux formes  $\beta$ , déterminé par analyse par RMN, est de 4/1.



Spectre RMN (90 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  : 7,35 (m, 10 H, 2 Ph); 6,28 (d,  $H_1^\alpha$ ,  $J_{1,2} = 3,5$  Hz);  
 5,56 (d,  $H_1^\beta$ ,  $J_{1,2} = 8,5$  Hz);  
 5,50 (d.de d.,  $H_3^\beta$ ,  $J_{2,3} = 9$  Hz,  $J_{3,4} = 8,5$  Hz);  
 5,15 (d.de d.,  $H_3^\alpha$ ,  $J_{2,3} = 9$  Hz,  $J_{3,4} = 8,5$  Hz);  
 4,43 (d, 1H,  $H_1'$ ,  $J_{1,2} = 8$  Hz);  
 3,80 (système AB, 2H, Cl- $\underline{CH}_2$ -CO); 3,75 (s, 3H, COOMe);  
 3,60 (d.de d.,  $H_2^\beta$ ,  $J_{1,2} = 8$  Hz,  $J_{2,3} = 9$  Hz);

3,57 (d.de d.,  $H_2$ ,  $J_{1,2} = 3,5$  Hz,  $J_{2,3} = 9$  Hz);  
2,25; 2,10; 2,09 (3s, 9 H, 3OAc)

D) Préparation du disaccharide 3 par bromuration des di-  
saccharides 2

5 On soumet le mélange d'acétates de structure  
2 à l'action de  $TiBr_4$ : On soumet à agitation une solution  
de 140 mg du mélange d'acétates 2 dans un mélange de  
3 ml de dichlorométhane et de 0,3 ml d'acétate d'éthyle  
à 17-18°C, sous atmosphère d'argon sec, en présence de  
10 140 mg de  $TiBr_4$  ( $\sim 2$  équivalents) pendant 20 heures.  
Après refroidissement à 0°C et dilution avec 30 ml de  
dichlorométhane, le mélange est lavé avec de l'eau gla-  
cée, puis avec une solution aqueuse à 5 % de bromure de  
potassium et ensuite avec de l'eau et séché sur du sul-  
15 fate de sodium, filtré et évaporé. Le résidu est chroma-  
tographié sur une colonne de gel de silice (10 g). Par  
élution avec un mélange dichlorométhane - acétate d'é-  
thyle (19 : 1, v/v), on récupère, par ordre d'élution :

- le bromure 3 (74 mg; rendement 50 %) sous  
20 forme d'un sirop incolore, instable (immédiatement en-  
gagé dans la réaction suivante);

spectre RMN (90 MHz,  $CDCl_3$ )

$\delta$  : 7,35 (m, 1OH, 2Ph); 6,38 (d, 1H,  $H_1$ ,  $J_{1,2} = 3,5$  Hz);  
5,55 (d.de d., 1H,  $H_3$ ,  $J_{2,3} = 10$  Hz,  $J_{3,4} = 8,5$  Hz);  
25 5,15 (t, 1H,  $H_4$ ,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9$  Hz);  
4,80 (système AB + 1s, 4H, 2  $OCH_2$  Ph);  
4,42 (d, 1H,  $H_1'$ ,  $J_{1',2'} = 7$  Hz); 3,79 (système AB,  
2H, Cl- $CH_2$ -CO);  
3,75 (s, 3H, COOMe); 2,24; 2,10 (2s, 6H, 2OAc)

30 - une fraction (28 mg; rendement 20 %) cor-  
respondant au produit de départ qui n'a pas réagi,

- une fraction migrant peu correspondant à  
des produits de O-débenzylation partielle.



EXEMPLE 2 :

Synthèse du tétrasaccharide 6

On prépare le tétrasaccharide 6 en effectuant dans l'étape a) la condensation des disaccharides 3 et 4, en soumettant au cours de l'étape b) le tétrasaccharide 5 formé à une réaction sélective de -O-démonochloroacétylation en position 4. Le dérivé 4 est préparé selon la demande FR 82 01575. a) Réaction de condensation

Un mélange de 64 mg (80  $\mu$ M) du bromure 3 fraîchement préparé, de 51 mg (60  $\mu$ M) du composé 4 et de 80 mg de tamis moléculaire 4 Å en poudre dans 1,5 ml de dichloroéthane anhydre est soumis à agitation durant une demi heure à la température ambiante, sous atmosphère d'argon sec, puis est refroidi à - 20°C. On ajoute successivement 20 ml (150  $\mu$ M) de sym-collidine et 31 mg (120  $\mu$ M) de triflate d'argent. Le mélange réactionnel est soumis 1 h. à agitation à - 20°C, puis on laisse la température remonter vers la température ambiante pendant 15 h. Après dilution avec 50 ml de dichlorométhane, les solides sont essorés et le filtrat est lavé avec une solution aqueuse glacée d'acide chlorhydrique 1 M puis avec de l'eau (deux fois). On le sèche ensuite sur du sulfate de sodium, on le filtre puis on évapore.

Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (8 g, gel 230-400 mesh). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (4:3, v/v) permet de récupérer 37 mg de tétrasaccharide 5 (rendement 39 %) sous forme d'un verre incolore.  $[\alpha]_D^{20} = + 56^\circ$  ( $c = 0,6$ ;  $\text{CHCl}_3$ ); spectre RMN (90 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$ : 7,30 (m, 3OH, 6Ph); 5,41 (d.de d., 1H,  $\underline{H}_3''$ ,  $J_{2''3''} = 10 \text{ Hz}$ ,  $J_{3''4''} = 9 \text{ Hz}$ );  
5,05 (d.de d., 1H,  $\underline{H}_4'''$ ,  $J_{3'''4'''} = 9,5 \text{ Hz}$ ;  $J_{4'''5'''} = 8,5 \text{ Hz}$ );  
5,00 (d,  $\underline{H}_1''$ ,  $J_{1''2''}$  faible, recouvrement avec d'autres protons);



3,72 (système AB + 1s, 5H,  $\text{Cl-CH}_2\text{CO}$  et  $\text{COOMe}$ );  
 3,63 (s, 3H,  $\text{COOMe}$ ), 3,20 (d.de d., 1H,  $\text{H}_2''$ ,  $\text{J}_{1'',2''}$  :  
 3,5 Hz,  $\text{J}_{2'',3''}$  : 10 Hz);  
 2,20; 2,11, 2,00 (3s, 12H, 4OAc).

5 Par élution de la colonne avec le mélange acétate d'éthyle - hexane (2:1, v/v), on récupère 23 mg du produit de départ 4 (rendement 44 %).

b) Réaction de -O-déchloroacétylation

Une solution de 36 mg (23  $\mu\text{M}$ ) du tétra-  
 10 saccharide 5 dans 1,25 ml d'un mélange de pyridine et 0,25 ml d'éthanol absolu est chauffée à 100°C en présence de 7 mg (100  $\mu\text{M}$ ) de thiourée pendant 20 mn. Après refroidissement et évaporation à sec, le résidu solide est repris avec 20 ml d'eau et extrait avec du chloro-  
 15 forme (5 fois 5 ml). Les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse à 10 % d'hydrogénosulfate de sodium, avec de l'eau, séchées sur du sulfate de sodium, filtrées et évaporées. Le résidu est chromatographié sur  
 20 une colonne de gel de silice (3 g). Par élution avec un mélange acétate d'éthyle - hexane (3:2, v/v) on obtient 27 mg du dérivé 6 (rendement 80 %) sous forme d'un verre incolore;  $[\alpha]_D^{20} = + 61^\circ$  ( $c = 0,8$ ; chloroforme);  
 spectre RMN (90 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , puis  $\text{D}_{20}$ ) :

$\delta$ : 7,30 (m, 30 H, 6 Ph); 5,45 (d.de d., 1H,  $\text{H}_3''$ ,  $\text{J}_{2'',3''} =$   
 25 10 Hz,  $\text{J}_{3''4''} = 9\text{Hz}$ );

3,83 (s, 3H,  $\text{COOMe}$ ); 3,67 (s, 3H,  $\text{COOMe}$ );  
 3,25 (d.de d.) 1H,  $\text{H}_2''$ ,  $\text{J}_{1'',2''}$ ; 3,5 Hz,  $\text{J}_{2'',3''}$ : 10 Hz);  
 2,75 (1H, OH, échangé par  $\text{D}_{20}$ , OH en 4 du motif acide uronique;  
 2,15; 2,04 (25, 12H, 4 OAc).



30 EXEMPLE 3

Synthèse du pentasaccharide 8 ou

1) On effectue une réaction de condensation entre le tétrasaccharide 6 et le monosaccharide 7, ce qui conduit au pentasaccharide 8.

Un mélange de 27 mg (54  $\mu$ M) de bromure 7 préparé selon H. PAULSEN und W. STENZEL, Chem. Ber., 111 (1978) 2334-2347, de 26 mg (18 $\mu$ M) du tétrasaccharide 6 et de 50 mg de tamis moléculaire 4 Å en poudre dans 0,8 ml de dichloroéthane est soumis à agitation durant 1/2 h à la température ambiante sous atmosphère d'argon sec, puis refroidi à - 20°C. 16 ml (120  $\mu$ M) de syn-collidine et 26 mg (100  $\mu$ M) de triflate d'argent sont ajoutés successivement et le mélange réactionnel est soumis à agitation pendant 18 h en laissant la température remonter lentement vers la température ambiante.

Après traitement identique à celui décrit pour la préparation de 5, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (5g, gel 230-400 mesh). Par élution avec un mélange hexane-acétate d'éthyle (4:3, v/v), on récupère 30 mg de pentasaccharide 8 sous forme d'un verre incolore (rendement 90 %).  $[\alpha]_D^{20} = + 67^\circ$  (c 1; chloroforme).

Spectre RMN (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

$\delta$ : 7,30 (m, 40 H, 8 Ph); 5,53 (d, 1H,  $H_1'''$ ,  $J_{1''',2'''} = 3,5$  Hz); 5,40 (d.de d. 1H,  $H_3''$ ,  $J_{2'',3''} : 10$  Hz,  $J_{3'',4''} = 9$  Hz); 3,76 (s, 3H, COOMe); 3,61 (s, 3H, COOMe); 3,30-3,10 (2 d.de d. recouvrement, 2H,  $H_2''$  et  $H_2'''$ ,  $J = 3,5$  et 10 Hz); 2,10; 2,03; 2,00 (3s, 15 H, 5 OAc)

#### EXEMPLE 4 :

##### Préparation du pentasaccharide 13 :

On a recours aux étapes suivantes :

- a) d'élimination des groupes acétyle (pentasaccharide 9)
- b) de sulfatation des groupes -OH ainsi libérés (pentasaccharide 10)
- c) d'hydrogénation pour libérer les groupes -OH protégés par des groupes benzyle et pour trans-





former le groupe  $-N_3$  en groupe  $-NH_2$  (pentasaccharide 11)

d) de sulfatation, des groupes  $NH_2$  (pentasaccharide (12) puis saponification des groupes  $-COOMe$  en position 6 (pentasaccharide 13).

b Ces étapes sont réalisées comme suit

a)- élimination des groupes acétyle du dérivé 8 :

Une solution de 28 mg du pentasaccharide 8 dans un mélange de 2,5 ml de 1,2-diméthoxyéthane et de 10 0,8 ml de méthanol est refroidie à  $0^\circ C$  sous agitation. On ajoute alors 1 ml d'une solution 1M de soude, goutte à goutte, en 10 mn. Le mélange réactionnel est soumis à agitation 1 h à  $0^\circ C$ , puis 12 h à la température ambiante. Après refroidissement à  $0^\circ C$ , on ajoute 3 ml d'acide

15 chlorhydrique 1M et le mélange laiteux est immédiatement extrait avec du chloroforme (5 fois 5 ml). Les phases organiques sont lavées avec de l'eau, séchées sur du sulfate de sodium, filtrées et évaporées. Le résidu est repris dans 2 ml de méthanol et traité par une solution 20 étherée de diazométhane (excès jusqu'à persistance de la coloration jaune) pendant une demi-heure.

Après évaporation à sec, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (2 g, gel 230-400 mesh). L'élution par le mélange dichlorométhane-méthanol (15:1, v/v) permet de récupérer 18 mg du pentasaccharide 9 (rendement 72 %) sous forme d'un verre incolore.  $[\alpha]_D^{20} = + 57^\circ$  ( $c = 1$ ; chloroforme);

Spectre RMN (90 MHz,  $CDCl_3$ , puis  $D_{20}$ ):

30  $\delta$ : 7,30 (m, 40 H, 8 Ph); 5,50 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3,5$  Hz,  $H_1$  d'une unité 2-azido); 3,78 (s, 3H, COOMe);

3,28 (s, 3H, COOMe); absence de signaux OAc dans la zone 1,50  $\angle$  5 c 2,50.



b) sulfatation des groupes -OH

A une solution du composé 9 (22 mg) dans le diméthylformamide (0,5 ml), on ajoute du complexe triméthylamine/SO<sub>3</sub> (22 mg, 2,5 éq/OH). Le mélange réactionnel est chauffé à 50°C durant environ 14 h. On ajoute alors à nouveau du complexe triméthylamine/SO<sub>3</sub> (10 mg) et laisse la réaction évoluer durant 24 heures. On ajoute au mélange réactionnel du méthanol (0,5 ml) et du chloroforme (0,5 ml). La solution est introduite au sommet d'une colonne de Séphadex LH<sub>20</sub> équilibrée dans un mélange CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (1/1 ; v/v). Les fractions contenant le produit sulfaté sont regroupées et le solvant est évaporé. On obtient ainsi un verre (30 mg).

Ce verre est ensuite chromatographié sur gel de silice (10 g) dans un solvant constitué de 3 parties du mélange acétate d'éthylène/pyridine acide acétique/eau, (6/2/0,6/1, v/v/v/v) et de 2 parties du mélange acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau, (5/5/1/3, v/v/v/v). parties du mélange acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau, 5/5/1/3, v/v/v/v.

Les fractions contenant le produit désiré sont rassemblées et concentrées. Après évaporation des solvants, le résidu obtenu est dissous dans du méthanol additionné d'eau, puis passé au travers d'une colonne de Dowex 50 W x 4, Na<sup>+</sup>, équilibrée dans un mélange méthanol/eau (50/50, v/v). On obtient ainsi le sel de sodium.

c) hydrogénation

Le produit obtenu ci-dessus est dissous dans du méthanol (3,7 ml) additionné d'eau (0,3 ml).

A cette solution, on ajoute le catalyseur (Pd/C, 5%, 40 mg) et on agite sous atmosphère d'hydrogène pendant 5 jours. Après élimination du catalyseur par filtration, l'analyse du spectre U.V de la solution obtenue montre la disparition totale de l'absorption due aux groupes benzyle. Le solvant est alors évaporé, laissant un résidu, à savoir le composé 11.



d) sulfatation des groupes  $-NH_2$ , puis saponification des groupes carboxyle.

Le composé 11 est dissous dans l'eau (4ml). Le pH est ensuite ajusté à 9,5 puis on ajoute à la solution du  
5 complexe triméthylamine/ $SO_3$  (54 mg). Le pH est maintenu à 9,5 pendant toute la durée de la réaction par addition de soude 0,1N.

Après une nuit, on procède à une nouvelle addition d'agent de sulfatation (27 mg). Une dernière addition est effectuée  
10 après 24 h.

Après 48 h, on ajoute de la soude (3M, 34 ml) au composé 12 formé, puis la solution est soumise à agitation pendant 3 heures à

température ambiante de manière à hydrolyser les méthylesters des motifs de type acide uronique.

15 Le mélange réactionnel est ensuite neutralisé puis concentré jusqu'à un volume d'environ 2 ml.

La solution ainsi obtenue est déposée au sommet d'une colonne de Séphadex G 25 (100 ml) éluée avec de l'eau.

20 Les fractions collectées sont analysées par absorption UV (206 nm) et en polarométrie (265 nm). Les fractions présentant une activité optique sont regroupées, le solvant est éliminé et le résidu repris par environ 2 ml d'eau et lyophilisé.

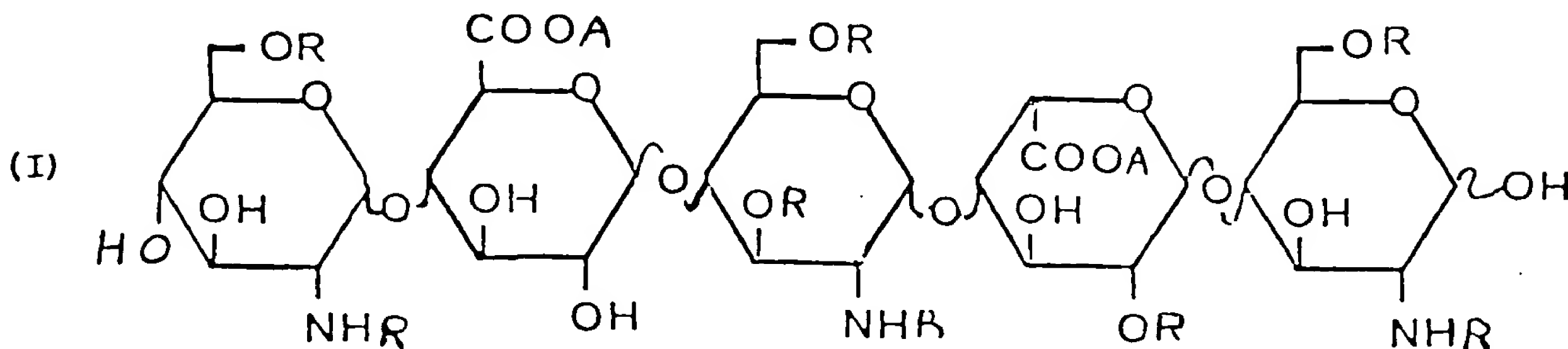
On obtient ainsi le dérivé 13 sous forme de poudre blanche (5,6 mg, 25% par rapport au produit 9).

L'étude en RMN confirme la structure attendue.



- REVENDICATION -

Pentasaccharides caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule (I) suivante :



dans laquelle

- 5 - les groupes R, identiques ou différents les uns des autres, représentent un atome d'hydrogène ou un radical physiologiquement acceptable, de type  $-R_1R_2$ , dans lequel R<sub>1</sub> représente avantageusement un sel minéral, en particulier un groupe  $SO_3^-$  et R<sub>2</sub> représente un cation métallique, notamment un métal alcalin tel que le sodium, ou alcalino-terreux, tel que le calcium ou le magnésium, ou un cation organique tel qu'un dérivé de base organique azotée, et
- 10

- les substituants A, identiques ou différents les uns des autres, représentent un atome d'hydrogène, ou encore un cation métallique ou un cation organique tels que définis ci-dessus.



FIGURE 1

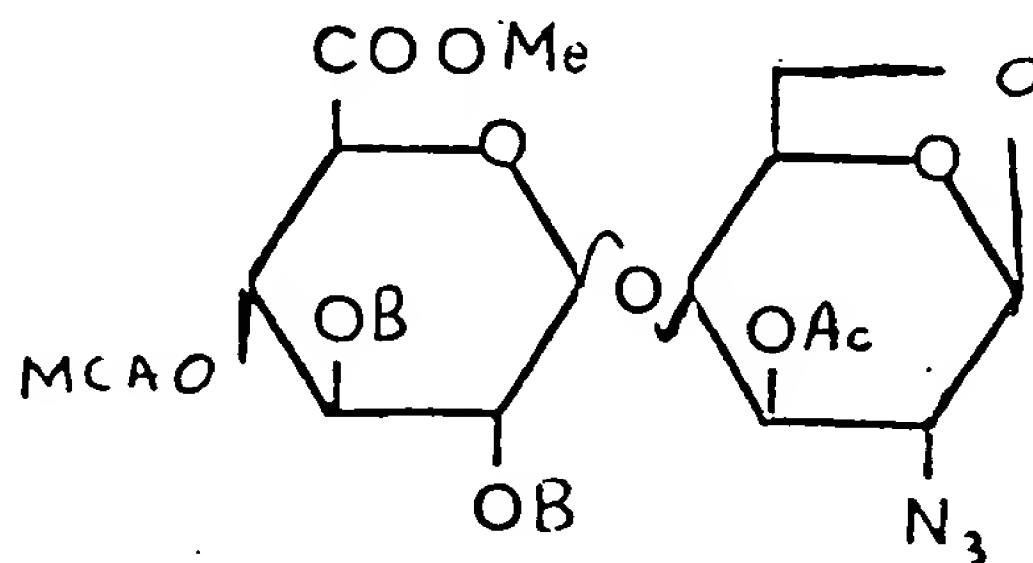
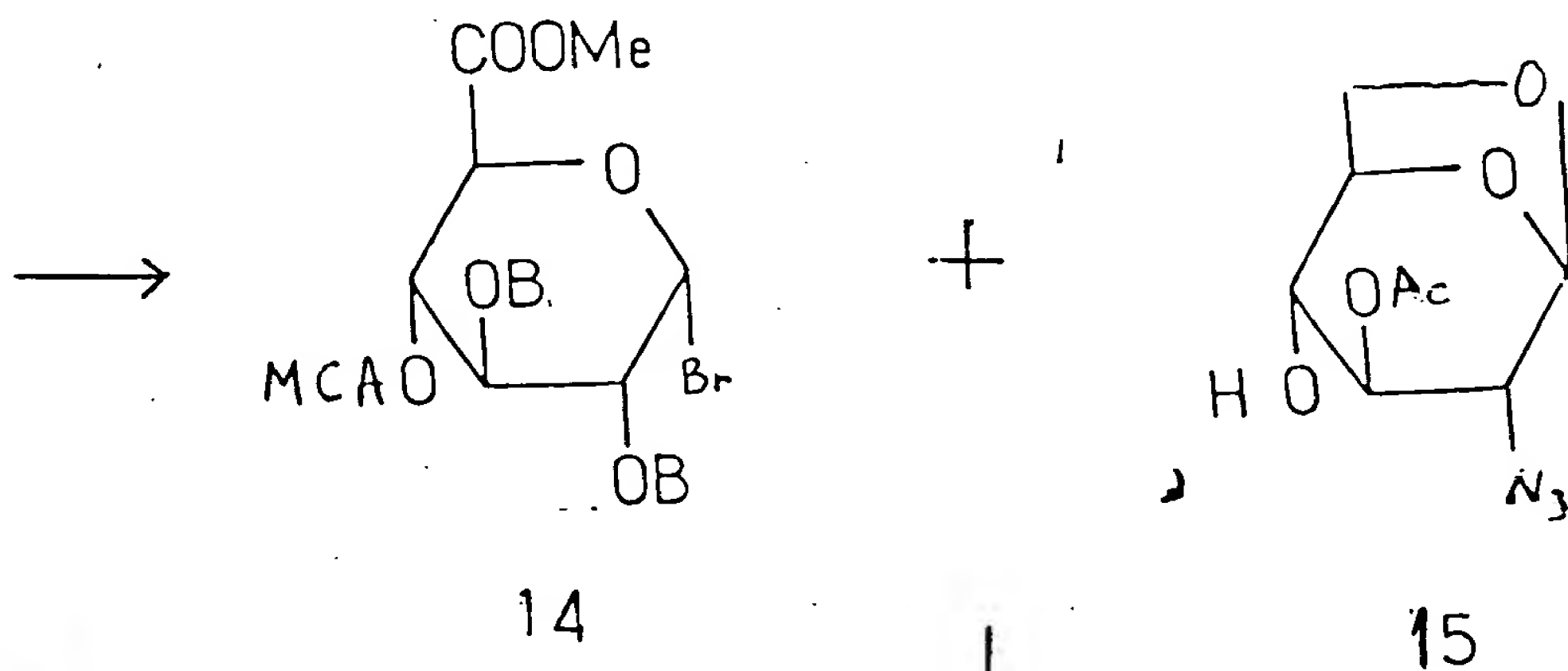
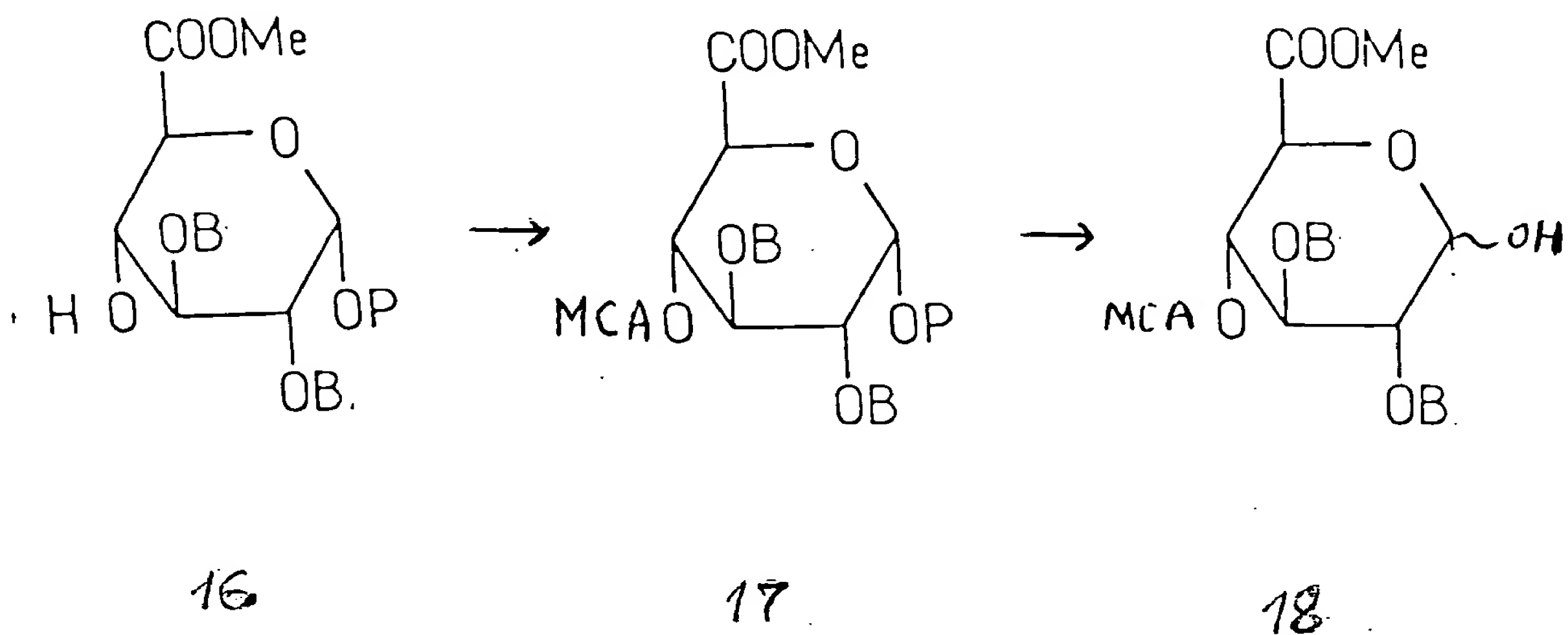
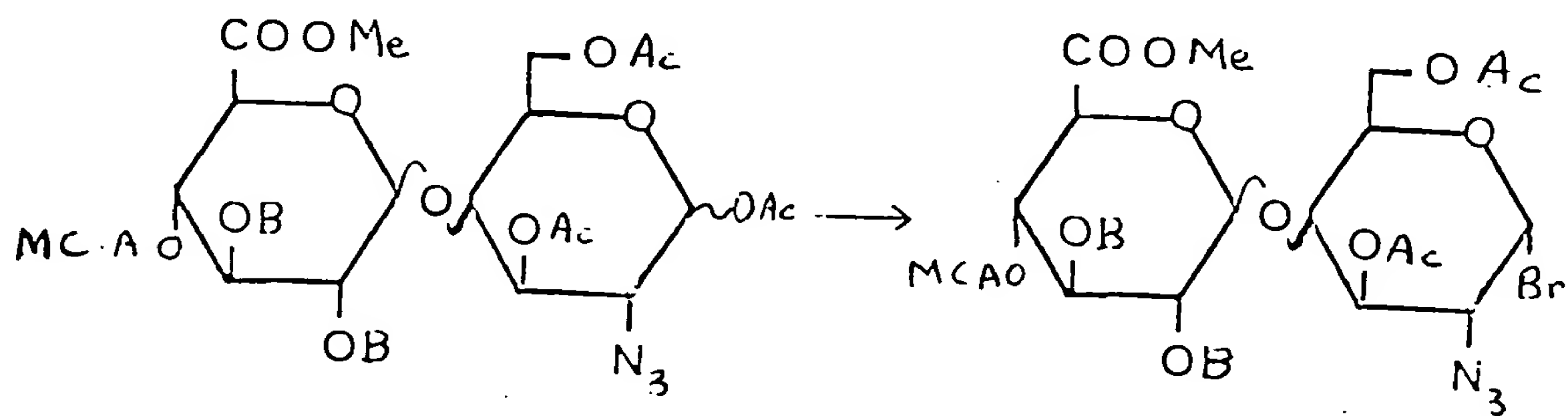
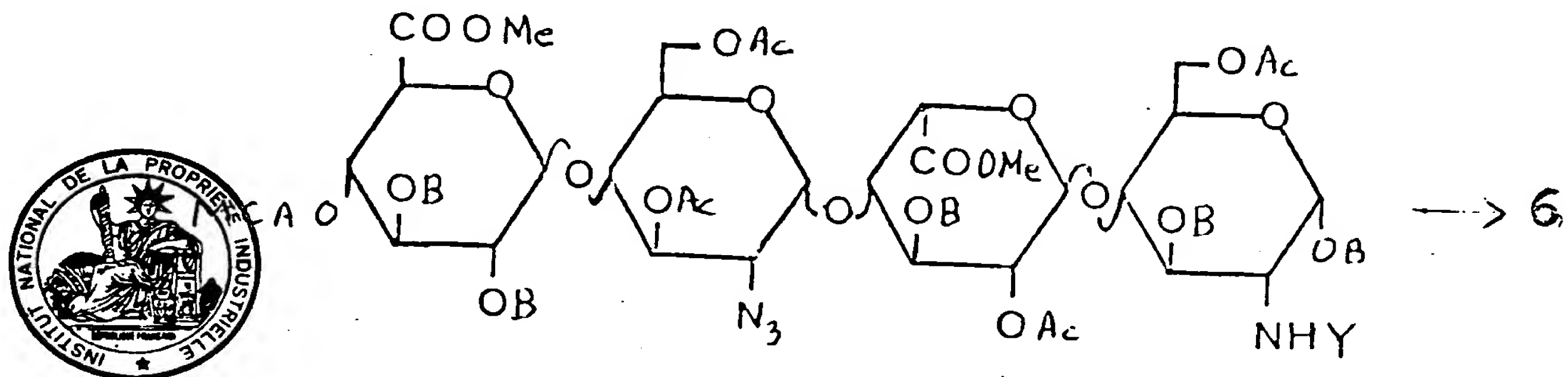
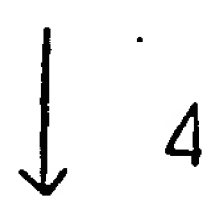
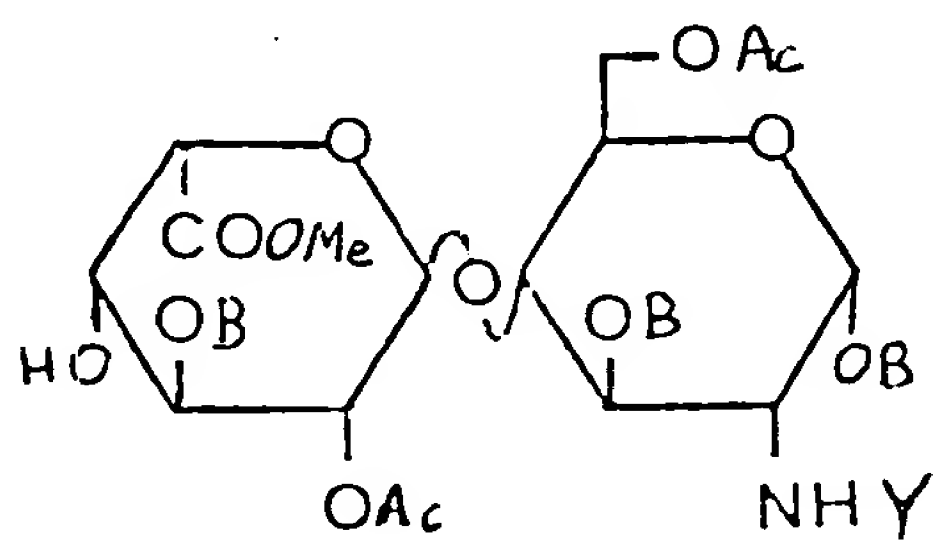


FIGURE 2



2

+3



5

6





FIGURE 3

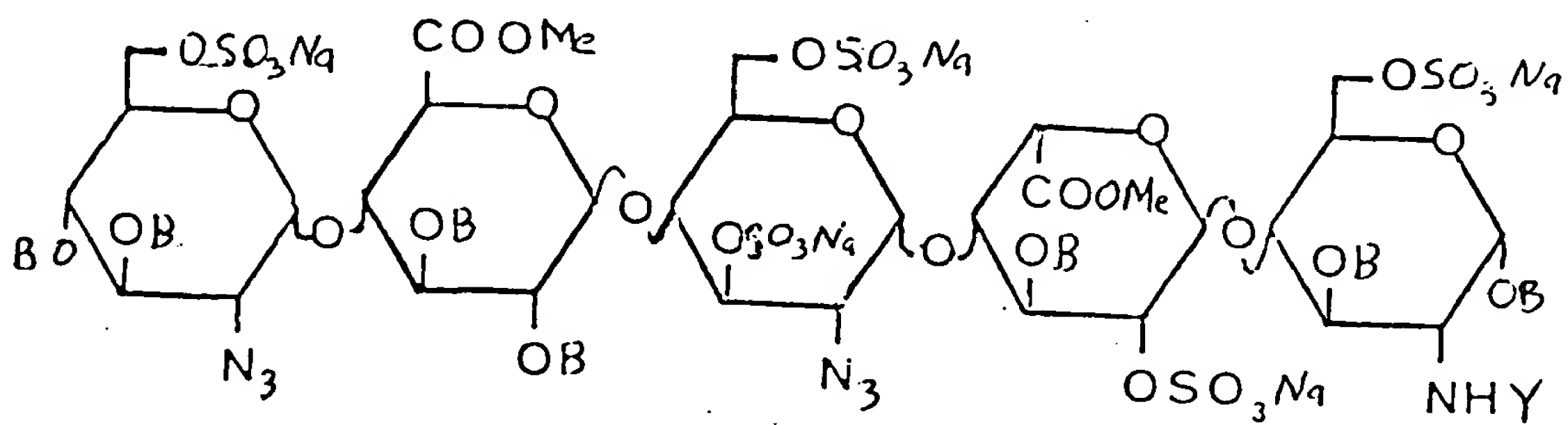
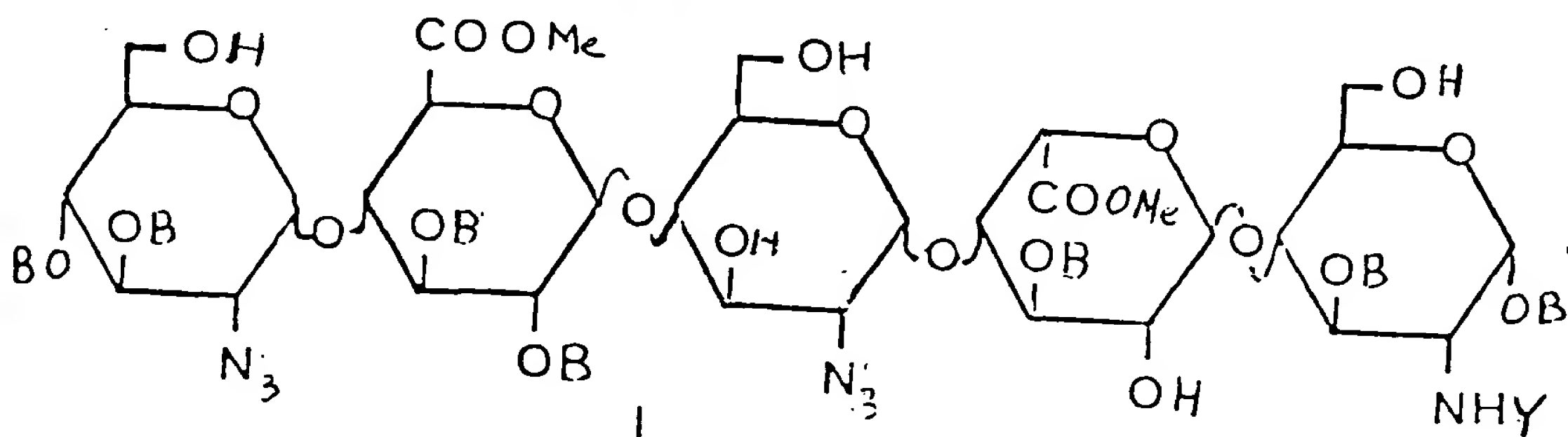
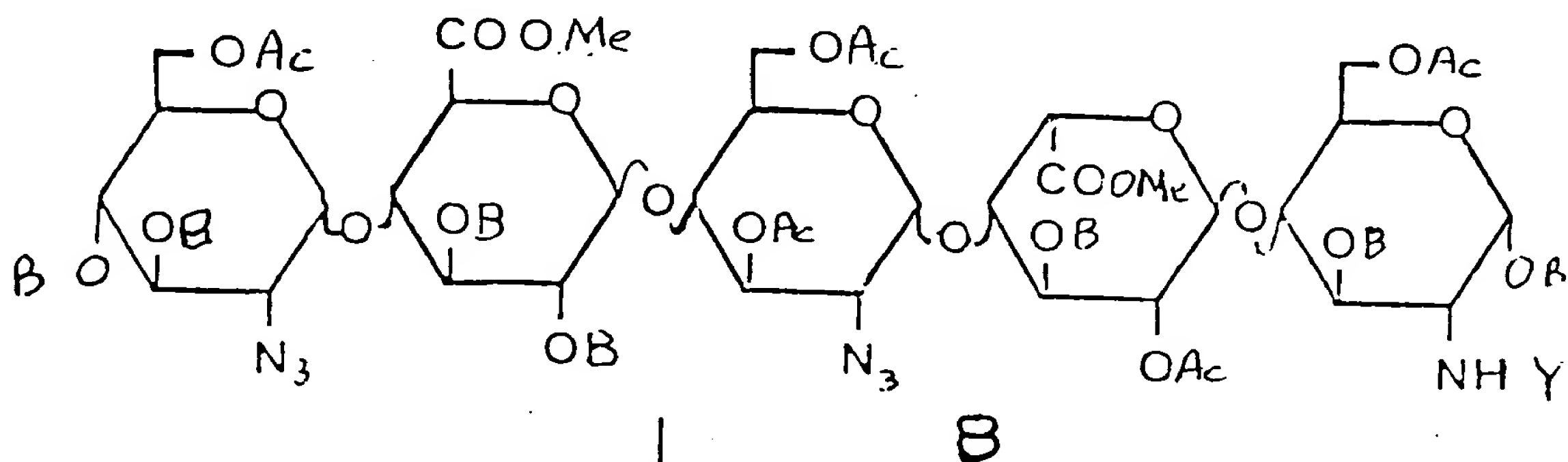
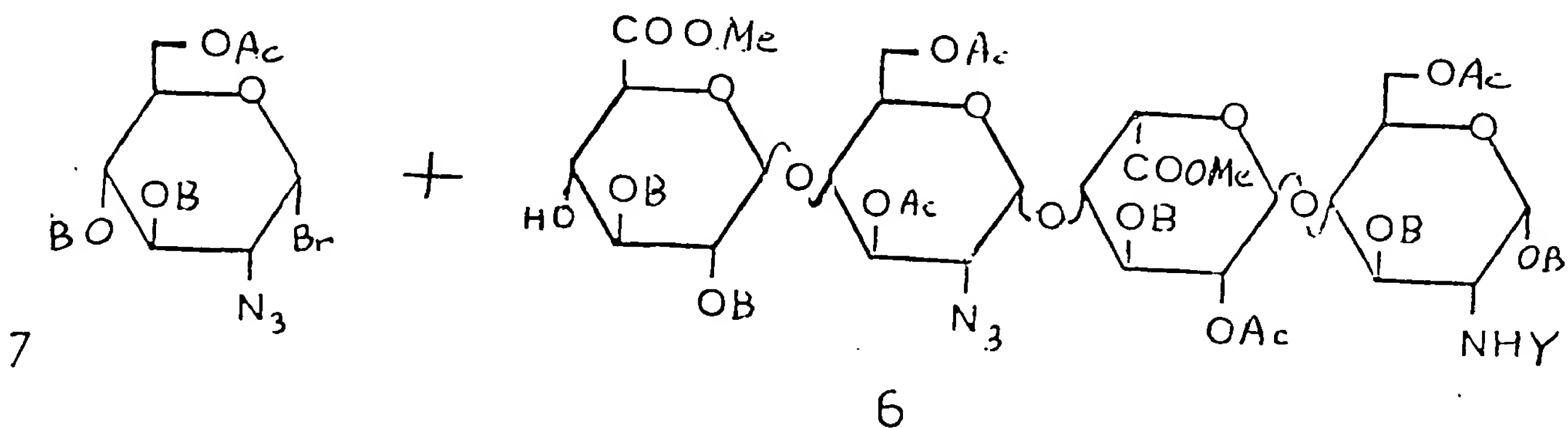


FIGURE 4

